

PERTUMBUHAN EKSPLAN PUAR TENANGAU (*Elettariopsis sp.*) SECARA *IN VITRO***Triningsih^{1*}, Luthfi A. M Siregar², Lollie A. P. Putri²**¹Alumnus Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian USU Medan 20155² Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian USU Medan 20155*Corresponding author : E-mail : triningsih@students.usu.ac.id**ABSTRACT**

Puar tenangau is a herbal plant of *Zingiberaceae* that from Thailand. The Plant has a big potential as pharmacy and traditional medicines, but the spread of this plant was unknown well in Indonesia even so needed a conservation for this plant. *In vitro* conservation is a one of alternative. In *in vitro* method, adding plant growth regulator is needed like Auxine and cytokinine. *Naphtalen-3-Acetid* is kind of auxine that good to root growth and Benzil amino purin is kind of cytokinin to shoot growth. The research aimed to know the influence of Benzylamino purine (BAP) and *Naphtalen-3-acetid* acid (NAA) concentration on the growth of puar tenangau. The research was carried out in the Tissue Culture Laboratory, Agriculture's Faculty of Nort Sumatera University from March to June 2012. This research used Completely Randomized Design with two factors. First factor was BAP concentration consist of four levels: 0 mg/l; 2 mg/l; 4 mg/l; 6 mg/l. The second factor was NAA concentration consist of three levels are 0 mg/l; 1.5 mg/l; 3 mg/l. The results showed that BAP concentration give effect significantly only on leaves number in 12 weeks after planting, but it have no effect significantly on the percent of living explant, plantlet height, leaves number on 4 and 8 weeks after planting. NAA and interaction of BAP and NAA have no effect significantly to living explant, plantlet height, leaves number on 4,8 and 12 weeks after planting.

Keywords: puar tenangau, BAP, NAA, *In vitro*.

ABSTRAK

Puar tenangau merupakan tanaman obat dari spesies *Zingiberaceae* yang berasal dari Thailand. Tanaman ini memiliki potensi yang besar sebagai obat farmasi maupun tradisional namun penyebarannya belum banyak diketahui di Indonesia sehingga diperlukan upaya pelestarian plasma nutfah. Konservasi *in vitro* merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan. Pada metode *in vitro*, diperlukan penambahan zat pengatur tumbuh seperti auksin dan sitokinin. NAA merupakan golongan auksin untuk perangsang akar dan BAP sebagai sitokinin untuk merangsang tunas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh Benzil Amino Purin dan Naftalen Asam Asetat terhadap pertumbuhan Puar tenangau (*Elettariopsis sp.*) secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan dari Maret sampai Juni 2012. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama adalah konsentrasi BAP yang terdiri dari 4 taraf yaitu 0 mg/l; 2 mg/l; 4 mg/l; 6 mg/l. Faktor kedua adalah konsentrasi NAA meliputi 0 mg/l; 1.5 mg/l; 3 mg/l. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi BAP berpengaruh nyata hanya terhadap jumlah daun 12 MST, tetapi belum berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan yang hidup, tinggi planlet, jumlah daun 4 MST dan 8 MST. Pada konsentrasi NAA dan interaksi BAP dan NAA belum berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan yang hidup, tinggi planlet, jumlah daun 4, 8 dan 12 MST.

Kata kunci : Puar tenangau, BAP, NAA, *In vitro*.

PENDAHULUAN

Tanaman dari famili *Zingiberaceae* merupakan contoh keanekaragaman hayati yang banyak terdapat di Indonesia dan memiliki potensi untuk dikomersialkan karena akan meningkatkan pendapatan jika pengelolaannya dilakukan dengan baik. *Zingiberaceae* belum banyak dikembangkan di negara-negara lain yang tidak termasuk negara tropis, karena tanaman ini hanya dapat berkembang dan tumbuh baik di daerah tropis, seperti Indonesia. Dengan kondisi yang demikian, penting sekali dalam mempopulerkan jenis tanaman ini (Oktaviani, 2009).

Elettariopsis sp. merupakan salah satu tanaman obat berbentuk perennial yang pertama kali ditemukan di bagian selatan Thailand dan di kawasan Malaya dan Borneo (Cowley, 2006). *Elettariopsis sp.* Baker merupakan keluarga *Zingiberaceae*. *Elettariopsis sp.* memiliki rimpang yang berwarna putih, menjalar dan ramping, dengan batang semu dengan panjang sekitar 90 cm. Di Thailand, tanaman ini umumnya dikenal sebagai "Putsing" dan sangat penting dalam obat tradisional untuk sifat karminatifnya (aromanya). Ramuan putsing ini memiliki bau yang kuat dan seluruh tanaman digunakan sebagai obat-obatan, baik dalam bentuk rebusan atau mandi (ARCBC, 2004; Sangjun *et al*, 2008).

Pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan obat terus meningkat, sampai saat ini sebagian besar bahan baku tumbuhan obat masih dipanen dari alam. Di lain pihak, kebutuhan akan bahan baku terus meningkat, seiring dengan kembalinya masyarakat untuk memanfaatkan tumbuhan sebagai bahan baku alami. Apabila upaya budidaya, pelestarian serta pemanfaatannya tidak diperhatikan, dikhawatirkan akan terjadi kekurangan bahan baku dan bahkan akan terjadi kepunahan spesies tumbuhan tertentu (Amzu, 1990). Rifai *et al* (1992) menyatakan bahwa tumbuhan obat di Indonesia merupakan kelompok komoditas pertanian yang erosi genetiknya berlangsung sangat cepat. Pelangkaan yang sangat cepat tersebut terjadi karena pengurasan bahan tanaman obat dari hutan belantara karena ketergantungan industri jamu.

Dalam mendukung upaya pelestarian plasma nutfah tanaman, konservasi *in vitro* merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan. Untuk meningkatkan daya regenerasi dari eksplan diperlukan penambahan zat pengatur tumbuh dalam media tanam. Menurut Van *and* Trinh (1990) dalam Marlin (2005) lebih jauh menyatakan bahwa suplai hormon secara eksogen sangat mempengaruhi proses tersebut, sejalan dengan laju metabolismenya.

Dalam kultur jaringan, dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin. Sitokinin (BAP) berfungsi sebagai perangsang pertumbuhan tunas, berpengaruh terhadap metabolisme sel, pembelahan sel, merangsang sel, mendorong pembentukan buah dan biji, mengurangi dormansi apikal, serta mendorong inisiasi tunas lateral (Wattimena *et al*, 1992). α -Naftalen Asam Asetat (NAA) merupakan auksin sintetik, tidak mengalami oksidasi enzimatik seperti IAA (Indole-3 Asetic Acid). Senyawa tersebut dapat diberikan pada medium kultur konsentrasi yang lebih rendah, berkisar 0,1-2,0 mg/l (Zulkarnain, 2009).

Untuk mendukung upaya pelestarian tanaman ini, maka peneliti tertarik untuk melihat pertumbuhan tanaman puar tenangau secara *in vitro* dengan pemberian NAA dan BAP. Tujuan dari penelitian ini untuk mendapatkan konsentrasi BAP dan NAA yang tepat pada pertumbuhan puar tenangau (*Elettariopsis sp.*) secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara. Penelitian ini dimulai pada bulan Maret 2012 sampai dengan Juni 2012. Bahan eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tunas dari planlet puar tenangau yang merupakan hasil sub kultur kedua yang dipelihara dalam media MS + 0,5 mg/ NAA + 1 mg/BAP selama 5 minggu yang diperoleh dari Penang, Malaysia. Eksplan yang digunakan dengan panjang 2 cm, Bahan penyusun media MS, BAP, NAA, agar-agar, akuades steril, dan bahan lainnya yang mendukung penelitian ini. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Laminar Air Flow,

autoclave, timbangan analitik, rak kultur, hot plate dengan magnetik stirer, erlenmeyer, gelas ukur, petridish, pipet ukur, pinset, lampu bunsen, dan alat-alat lainnya yang mendukung penelitian ini.

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama adalah konsentrasi BAP yang terdiri dari 4 taraf yaitu 0 mg/l; 2 mg/l; 4 mg/l; 6 mg/l. Faktor kedua adalah konsentrasi NAA meliputi 0 mg/l; 1.5 mg/l; 3 mg/l. Jika perlakuan (konsentrasi BAP, NAA dan interaksi) berbeda nyata dalam sidik ragam, dilanjutkan dengan Uji Berganda Duncan (DMRT) pada $\alpha = 5\%$ (Steel and Torrie, 1995).

Pelaksanaan Penelitian meliputi ; (1). Subkultur dilakukan dengan cara planlet dikeluarkan dari botol kultur lalu dimasukan ke dalam cawan petri, planlet dipotong-potong dengan menggunakan scalpel steril. Potongan tadi dimasukan ke dalam media multiplikasi yang baru (MS + 0,5 mg/ NAA + 1 mg/BAP) kemudian dipelihara selama 5 minggu. (2).Sterilisasi alat-alat, semua botol kultur dan alat-alat disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 17,5 psi selama 60 menit. Kemudian alat-alat tersebut dimasukkan ke dalam oven kecuali botol kultur. (3).Pembuatan media, Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MS padat. Setelah dilakukan pencampuran bahan kimia makro, mikro, iron, vitamin dan ZPT BAP dan NAA sesuai dengan perlakuan masing-masing kemudian ditambahkan agar ke dalam erlenmeyer setiap perlakuan, lalu dipanaskan diatas hot plate dengan pengaduk magnetic stirer sampai larutan menjadi bening (semua agar telah larut). Media siap dipindahkan ke dalam botol kultur berdiameter 2 cm sebanyak ± 20 ml/botol. Kemudian botol kultur tersebut ditutup dengan aluminium foil dan diberi label sesuai dengan perlakuan. Media dalam botol tersebut disterilisasikan di dalam autoklaf dengan tekanan 17,5 Psi, suhu 121°C selama 30 menit. Selanjutnya dapat disimpan dalam ruang kultur sebelum digunakan. (4). Persiapan ruang tanam, seluruh permukaan laminar air flow cabinet sebelumnya dibersihkan terlebih dahulu dengan di lap menggunakan alkohol 96% lalu di sterilkan dengan sinar Ultra Violet selama 1 jam sebelum proses penanaman dilakukan.

Penanaman

Planlet dikeluarkan dari botol hasil subkultur dengan menggunakan pinset setelah itu tunas-tunas dipisahkan satu persatu dengan menggunakan scalpel. Kemudian tunas-tunas yang memiliki bentuk yang hampir sama dan ukuran 2 cm diambil dan dipotong akarnya dengan menggunakan gunting yang steril. Eksplan yang akan dikulturkan ke dalam media tanam diletakkan di Petridis. Kemudian eksplan ditanamkan ke dalam botol media sesuai dengan perlakuan, setiap botol kultur terdiri dari 1 eksplan. Botol-botol kultur diletakkan pada rak kultur di dalam ruang kultur. Ruangan ini diusahakan bebas dari bakteri dan cendawan, dimana setiap hari disemprot dengan alkohol 96%. Dalam penelitian ini suhu ruangan kultur yang digunakan $\pm 20-22^{\circ}\text{C}$ dan intensitas cahaya 2000 lux. Parameter yang diamati meliputi persentase pertumbuhan eksplan, pertambahan tinggi eksplan, jumlah helai pada 4, 8 12 masa setekah tanam

.HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Pertumbuhan Eksplan (%)

Dari hasil pengamatan diperoleh bahwa persentase eksplan yang hidup untuk semua perlakuan konsentrasi BAP dan NAA sebesar 100 %. Rataan persentase pertumbuhan eksplan dari perlakuan konsentrasi BAP dan NAA dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi BAP dan NAA terhadap persentase pertumbuhan eksplan (%)

Perlakuan	A0 (Kontrol)	A1(BAP 2 mg/l)	A2 (BAP 4 mg/l)	A3(BAP 6 mg/l)	Rataan
N0(Kontrol)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
N1(NAA 1.5 mg/l)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
N2(NAA 3.0 mg/l)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Rataan	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Tinggi Planlet (cm)

Dari tabel sidik ragam diketahui bahwa perlakuan konsentrasi BAP, NAA dan interaksi antara kedua perlakuan belum berpengaruh nyata terhadap tinggi planlet. Rataan tinggi planlet dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi BAP dan NAA terhadap tinggi planlet (cm)

Perlakuan	A0 (Kontrol)	A1(BAP 2 mg/l)	A2 (BAP 4 mg/l)	A3(BAP 6 mg/l)	Rataan
N0(Kontrol)	4.87	5.65	4.15	4.98	4.91
N1(NAA 1.5 mg/l)	5.37	4.77	4.57	4.60	4.83
N2(NAA 3.0 mg/l)	5.23	4.45	4.23	4.03	4.49
Rataan	5.16	4.96	4.32	4.54	4.74

Jumlah Daun (helai)

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi BAP berpengaruh nyata terhadap jumlah daun 12 MST, sedangkan perlakuan konsentrasi NAA dan interaksi antara kedua perlakuan belum berpengaruh nyata terhadap jumlah daun 4, 8 dan 12 MST.

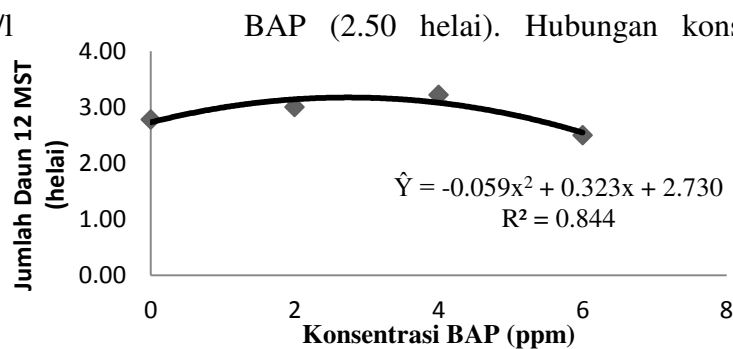
Rataan jumlah daun 4, 8 dan 12 MST dari perlakuan konsentrasi BAP dan NAA dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh konsentrasi BAP dan NAA terhadap jumlah daun (Helai)

Perlakuan		Jumlah Daun (Helai)		
		4 MST	8 MST	12 MST
Konsentrasi BAP	A0	0.94	1.78	2.78 a
	A1	1.00	1.83	3.00 a
	A2	1.00	2.06	3.22 a
	A3	0.89	1.67	2.50 b
Konsentrasi NAA	N0	1.00	1.96	3.04
	N1	0.96	1.79	2.88
	N2	0.92	1.75	2.71
Interaksi	A0N0	1.00	2.00	3.17
	A0N1	1.00	1.67	2.67
	A0N2	0.83	1.67	2.50
	A1N0	1.00	2.00	3.17
	A1N1	1.00	1.67	3.00
	A1N2	1.00	1.83	2.83
	A2N0	1.00	2.17	3.33
	A2N1	1.00	2.17	3.17
	A2N2	1.00	1.83	3.17
	A3N0	1.00	1.67	2.50
	A3N1	0.83	1.67	2.67
	A3N2	0.83	1.67	2.33

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada Uji Jarak Duncan pada taraf 5 %

Berdasarkan uji Duncan pada taraf 5 %, dapat dilihat bahwa jumlah daun pada 12 MST dengan pemberian konsentrasi BAP jumlah daun 12 MST tertinggi terdapat pada perlakuan 4 mg/l BAP (3.22 helai) yang berbeda nyata terhadap 6 mg/l BAP (2.50 helai) tetapi tidak berbeda nyata terhadap kontrol (2.78 helai) dan 2 mg/l BAP (3.00 helai) sedangkan pemberian BAP terendah pada perlakuan 6 mg/l BAP (2.50 helai). Hubungan konsentrasi BAP terhadap jumlah daun 12 MST dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hubungan konsentrasi BAP terhadap jumlah daun 12 MST

Dari Gambar 1 diperoleh persamaan polinomial model kuadrat $\hat{Y} = -0.059x^2 + 0.323x + 2.730$ dengan koefisien determinasi ($R^2 = 0.844$). Hal ini berarti penambahan konsentrasi BAP memberikan pengaruh yang mula-mula meningkat kemudian menurun terhadap jumlah daun 12 MST dan sebanyak 84.40% keragaman jumlah daun 12 MST diterangkan (dipengaruhi) oleh pemberian BAP. Dari persamaan polinomial model kuadrat $\hat{Y} = -0.059x^2 + 0.323x + 2.730$ diperoleh dosis BAP maksimum sebesar 2.73 mg/l.

Dari hasil analisis data secara statistik diperoleh bahwa pemberian konsentrasi BAP menunjukkan efek yang kuadrat terhadap jumlah daun 12 MST tetapi belum berpengaruh nyata pada persentase pertumbuhan eksplan, tinggi planlet dan jumlah daun 4 dan 8 MST.

Perlakuan konsentrasi BAP berpengaruh nyata terhadap jumlah daun yang terbentuk pada 12 MST. Pada konsentrasi 4 mg/l menghasilkan jumlah daun terbanyak (3.22 helai). Sedangkan pada perlakuan 6 mg/l BAP terjadi penurunan jumlah daun (2.50 helai). Hal ini menunjukkan bahwa pembentukan jumlah daun yang optimal terjadi pada perlakuan 4 mg/l BAP yang ditunjukkan oleh persamaan polinomial kuadrat masing-masing untuk persentase membentuk

tunas $\hat{Y} = -0.059x^2 + 0.323x + 2.730$ ($R^2 = 0.844$). Jumlah daun yang dihasilkan ini berhubungan dengan fungsi BAP dalam mendorong pembelahan sel dan proses organogenesis. Pada perlakuan 4 mg/l BAP pembentukan daun lebih dipengaruhi daripada pembentukan organ tanaman lain seperti akar dan tunas. Pengaruh auksin dan hormon tumbuhan lainnya dalam mengatur pertumbuhan atau pembentukan daun belum diketahui jelas. Sedangkan kerja atau peranan sitokinin sendiri belum dimengerti dan tidak cukup bukti-bukti yang jelas untuk menguatkan hasil dari suatu proses biokimia (Sofia, 2007; Davies, 1987).

Dari hasil analisis data secara statistik diketahui bahwa pemberian konsentrasi NAA belum menunjukkan pengaruh nyata terhadap ketiga peubah amatan. Hal ini diduga karena level auksin yang diberikan maupun yang tersedia di dalam eksplan belum mencapai rasio dan konsentrasi yang tepat sehingga belum efektif dalam pertumbuhan eksplan. Gunawan (1995) mengemukakan bahwa level auksin dalam eksplan tergantung dari bagian tanaman yang diambil dan jenis tanamannya. Oleh karena itu sulit untuk menentukan suatu formula terbaik pada setiap penggunaan.

Dari data yang dianalisis secara statistik, diketahui bahwa interaksi BAP dan NAA belum menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap ketiga peubah amatan tersebut yakni persentase eksplan yang hidup, tinggi planlet, jumlah daun 4 MST, 8 MST dan 12 MST. Interaksi konsentrasi BAP dan NAA yang diberikan belum mampu mencapai taraf keseimbangan untuk pertumbuhan tunas puar tenangau. Wattimena *et al* (1992) menyatakan bahwa dalam pemakaian pada kultur jaringan tanaman, konsentrasi efektif untuk masing-masing ZPT berbeda. Penentuan taraf konsentrasi disesuaikan dengan tipe organ atau eksplan, metode kultur jaringan, dan tingkat kultur jaringan (inisiasi kalus, induksi akar, induksi tunas, dan lain-lain). Armini *et al* (1991) menambahkan bahwa untuk pertumbuhan dan perkembangan kultur in vitro diperlukan komposisi dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda untuk satu varietas dengan varietas lain dari suatu tanaman.

Dari hasil penelitian jumlah tunas yang dihasilkan juga diketahui bahwa pertumbuhan puar tenangau ini sangat lambat mengingat dalam waktu kultur 12 minggu tinggi planlet tidak

memberikan pengaruh yang nyata dengan pemberian BAP dan NAA. Hal ini diduga terdapat senyawa didalam eksplan yang dapat menghambat proses morfogenesis tanaman tersebut. Hal ini diperkuat oleh Mariska (2010) yang menyatakan bahwa secara visual tanaman *Elattariopsis sp.* tersebut mirip jahe dan secara konvensional mudah diperbanyak. Tetapi setelah dicoba dalam kultur jaringan, sistem regenerasinya sangat lambat dan terdapat masalah pelayuan yang cepat. Diduga masalah ini terjadi karena ada metabolik sekunder yang dikeluarkan oleh jaringan tanaman dan masalah semakin meningkat dengan kondisi formulasi media yang kaya akan garam-garam mineral yang dapat menimbulkan tekanan osmosa tinggi.

KESIMPULAN

Perlakuan BAP menunjukkan pengaruh yang nyata untuk pembentukan daun pada 12 MST dengan hasil terbaik pada konsentrasi 4 mg/l BAP. Pemberian NAA pada konsentrasi 0-3 mg/l tidak diperlukan untuk pertumbuhan pua tenagau. Interaksi antara konsentrasi BAP dan NAA belum menunjukkan pengaruh yang nyata untuk ketiga peubah amatan yakni persentase eksplan yang hidup, tinggi planlet, dan jumlah daun. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda untuk mendapatkan hasil yang lebih baik untuk pertumbuhan pua tenagau.

DAFTAR PUSTAKA

- Amzu E., 1990. Pelestarian tumbuhan obat di Indonesia. Makalah dalam Seminar Nasional Pelestarian Sumber daya Hutan Fakultas Kehutanan IPB, 31 Mei 1990, Bogor.
- Armini, A.N. M., Wattimena dan Gunawan L.W., 1991. Perbanyak Tanaman Bioteknologi Tanaman Lab. Kultur Jaringan. IPB, Bogor.
- Asean Regional Centre for Biodiversity Conservation (ARCBC)., 2004. The gateway biodiversity information I South East Asia. http://www.arcbc.org.ph/medicinal_plants1/medicinal. Diakses tanggal 5 Februari 2012.
- Cowley, E. J., 2006. Zingiberaceae. <http://www.rbgekew.org.uk/herbarium/brunei/fams>. Diakses 5 Februari 2012.
- Davies, P.J., 1987. The Plant Hormones. Their Nature. Machmilan Publishing Company, New York.

- Gunawan, L.W., 1995. Teknik Kultur Jaringan In Vitro dalam Hortikultura. Penebar Swadaya, Jakarta
- Mariska, I., 2010. Perkembangan Penelitian Kultur In Vitro pada Tanaman Industri, Pangan, dan Hortikultura. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor.
- Marlin., 2005. Regenerasi In vitro Planlet Jahe Bebas Penyakit Layu Bakteri Pada beberapa Taraf Konsentrasi 6-BAP dan NAA. Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian Indonesia. Vol.7 (1):8-14.
- Oktaviani, E., 2009. Biologi dan fenologi pembungaan Genus *Alpinia*, *Etlingera* dan *Zingiber*. Skripsi. Pemuliaan Tanaman Dan Teknologi Benih. IPB, Bogor.
- Rifai MA, Rugayah dan Widjaja E.A. 1992. Tiga Puluh tumbuhan obat langka Indonesia. Floribunda 2, 1-18.
- Sangjun., Chairgulpraset.,S. Prasertsongskon and S. Junpra., 2008. Chemical constituents of the essential oil, antioxidant and antibacterial activities from *Elettariopsis curtisii* Baker. Songklanakarin J. Sci. Technol.30 (5) :591-596, Sep. - Oct. 2008.
- Sofia, D., 2007. Pengaruh berbagai konsentrasi BAP dan CCC terhadap pertumbuhan embrio kedelai secara in-vitro. USU, Medan.
- Van, T.T.K and T.H.Trinh., 1990. Organic Differentiation. In; S.S Bhojwani (ed). Plant Tissue Culture. Applications and Limitations. Elseviet Science Publ, Netherland.
- Wattimena, G.A., L.W. Gunawan, N.S. Matjik, E. Sjamsudin, N.M.A. Wiendi, dan A. Eniawati., 1992. Bioteknologi tanaman. Tim Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. IPB. Bogor.
- Zulkarnain, H., 2009. Kultur Jaringan Tanaman. Bumi Aksara, Jakarta.